ES

Solidscreen™ II Strip

MTP para la determinación de anticuerpos irregulares

Forma comercial

REF	806 521	10 Platten	Solidscreen™ II Strip
MTP	**Microplaca de microtest prueba/placas de microtest** 12 tiras ade 8 cavidadespozos en un marco de placa		

IVD Reactivo para el diagnóstico in vitro

Sólo para el uso por personal de laboratorio capacitado. Los símbolos se usan conforme a la norma EN 980. Símbolos no contenidos en EN 980 se explican en este texto.

Fin de aplicación

Solidscreen™ II Strip son MTP activadas que se utilizan para la ejecución de una test prueba de anti-globulina humana de fase sólida (test prueba de anti-globulina LISS). Son adecuadas para la búsqueda de anticuerpos, identificación de anticuerpos, análisis de compatibilidad serológica, titulación de anticuerpos, determinación de antigeno weak D débil y Partial D parcial (DVI y DVII) en muestras RhD negativas y para el test la prueba de anti-globulina humana.

Principio de l test la prueba

El principio del test Es una técnica de fase sólida para determinar e identificar anticuerpos eritrocitarios o antigenos. Eritrocitos que están sensibilizados con anticuerpos y/o componentes complementarios son ligados fuertemente a la pared de la cavidad durante una centrifugación tras añadir anti-globulina humana.

Los componentes eficaces del respectivo reactivo aplicado de anti-globulina humana (anti-human globulin Solidscreen™ II o anti-human globulin Solidscreen™ II-Donor) ligan aquí a la pared activada con proteína A del pozo la cavidad. La proteína A es un componente de la pared celular del *Staphylococcus aureus*, que posee una alta afinidad de enlace a la parte Fc de la mayoría de las clases de inmunoglobulinas.[1] Las moléculas de anti-globulina humana ligadas enlazan, a su vez, a eritrocitos sensibilizados y constituyen así un eslabón entre los eritrocitos sensibilizados y la pared del pozo la cavidad. Una reacción positiva se muestra en la formación de una capa celular en la pared de la cavidad el fondo del pozo. En cambio, eritrocitos libres no sensibilizados sedimentan en el fondo de la cavidad después de la centrifugación.

Reactivos

◄ Toda MTP **Solidscreen™ II Strip** contiene 12 tiras a 8 cavidades pozos en un marco de placa. El procesamiento se efectúa de forma semiautomática (posible en distintos grados de automatización) o completamente automática en el autómata equipo automatizado de grupos sanguíneos TANGO® optimo y TANGO infinity®. Toda tira Solidscreen™ II Strip lleva un código de barras en el borde superior que es legible para los autómatas equipos automatizados de grupos sanguíneos TANGO® optimo y TANGO infinity®. En el borde inferior de la tira va impreso un código numérico de 4 cifras. Las primeras dos cifras de este código son el código del producto para Solidscreen II, las otras dos indican el número de la tira (01-12). El código del producto se repite en el marco de la placa. ◄

Reactivos y materiales requeridos adicionalmente

- MLB 2 (REF 805 200)
- Solidscreen™ II-Control (Anti-D) (REF 806 514)
- Solidscreen™ II Anti-D (RH1) Blend (REF 806 530)
- Anti-Human Globulin Solidscreen™ II (REF 806 515)
- Anti-Human Globulin Solidscreen™ II-Donor (REF 806 516)

Dado que los reactivos requeridos como Anti-Human Globulin Solidscreen™ II, Anti-Human Globulin Solidscreen™ II-Donor, Solidscreen™ II Control y MLB 2 para la aplicación en Solidscreen™ II están adaptadas óptimamente entre si, pueden ser utilizadas sólo en esta combinación.

- Solución de cloruro sódico isotónica compensada con fosfato (PBS), pH 7,3
- Solución de cloruro sódico isotónica
- Biotestcell®-P (REF 816 028)
- Biotestcell®-P1, -P2 (REF 816 012)
- Biotestcell®-P3 (REF 816 017)
- Biotestcell®-P3 E (REF 816 050)
- Biotestcell®-I8 (REF 816 020)
- Biotestcell®-I11 (REF 816 021)
- Biotestcell®-I11 E (REF 816 051)
- Biotestcell®-Kp[a] (REF 816 027)
- Coombscell-E (REF 816 030)
- Alsevers F (REF 806 505)
  (Medio de suspensión para eritrocitos)
- Medio de titulación Solidscreen II (REF 806 511)
- Agitador
- Centrífuga para MTP
- Espejo de lectura (p. ej. Bio-Rad REF 845 310)
- ◄
- Bio-Rad Washer (REF 840 410)
- Pipetas, 50 µl, 100 µl, 1 ml
- Incubador
- TANGO® optimo (REF 848 900 010)
- TANGO infinity® (REF 850 000 010)

Material de muestras

Para el test la prueba de anti-globulina humana directa debe utilizarse sangre fresca con EDTA para evitar una acumulación *in vitro* de componentes del complemento.

Para el test directo de globulina antihumana puede utilizarse suero o plasma EDTA. ◄

Las muestras deberían ser testadas analizados lo más rápidamente posible después de su extracción. Si esto no es posible, se recomienda guardar el plasma o suero a 2...8°C hasta 7 días. Para un almacenamiento más largo se recomienda congelar el plasma o suero. No se recomienda un testado analizar las muestras después de 7 días, dado que la reactividad de anticuerpos en muestras de más tiempo puede disminuir. Antes del testado análisis de las muestras, éstas tienen que ser centrifugadas para garantizar una clara separación de los componentes celulares y líquidos

Ejecución del test de la prueba

A. Semiautomática

1. Elaboración de una suspensión celular de 1% en MLB 2 (LISS) según el siguiente esquema de dilución: 1 ml de eritrocitos de test prueba de al 3% (Biotestcell®) + 2 ml de MLB 2. Las suspensiones celulares diluidas en MLB 2 son utilizables por un día.
   Si se usa sedimento de eritrocitos proveniente de sangre nativa, sangre de estabilizador o segmentos de manguerilla, se tiene que utilizar una solución Alsevers-LISS para la elaboración de una suspensión celular de al 1%. Esta solución Alsevers-LISS se elabora de con una parte de solución Alsever modificada y dos partes de MLB 2. Si se utiliza células de búsqueda o identificación propias, se recomienda la elaboración de una suspensión madre de eritrocitos de al 3%. Ésta se elabora como medio de suspensión de una muestra de sangre centrifugada (p. ej. 2 min. a 1000 x g) o de un sedimento de eritrocitos con solución Alsever modificada. Ésta se conserva una semana si se guarda apropiadamente y puede ser diluida con MLB 2 diariamente como se ha descrito.
2. Aplicar por pipeta respectivamente Pipetear 50 µl de los sueros o plasmas o reactivos a examinar (controles o Solidscreen™ II Anti-D (RH1) Blend) en los pozos cavidades previstos y añadir respectivamente 50 µl de la suspensión de eritrocitos de test prueba preparados o de eritrocitos de donador.
3. Mezclar en el agitador y incubar 20 minutos en el incubador a 37 ºC cubierto con una lámina plástica adherente.
4. A continuación, centrifugar 3-5 minutos a 1500 x g.
5. Después de la centrifugación, lavar los eritrocitos inmediatamente con PBS. Si después de la centrifugación transcurrieron 7 minutos, antes de la operación de lavado se deberá centrifugar de nuevo un minuto a 1500 x g.
   a) Manual: Decantar el sobrenadante de las cavidades. Con una pipeta multicanal pipetar respectivamente 250 µl de PBS a los sedimentos de eritrocitos. Centrifugar un minuto a 1500 x g. La operación de lavado deberá repetirse dos veces.
   b) Semiautomático: Lavar con el Bio-Rad Washer cinco veces según las instrucciones de servicio.
6. Añadir respectivamente 100 µl de Anti-Human Globulin Solidscreen II o Anti-human Globulin Solidscreen™ II-Donor. Resuspender completamente los eritrocitos agitando a alta velocidad (2-3 minutos) en el agitador.
7. Control visual si en todos los cavidades pozos están resuspendidos los eritrocitos. Si hay un aglutinado, éste tiene que ser documentado como reacción positiva (ver también en “Indicaciones de seguridad“).
8. Centrifugar la MTP 3 minutos a 35-40 x g.
9. **Evaluación de las reacciones**: Lectura visual del enlace resultado de la reacción de fase sólida mediante espejo de lectura o evaluación automática. ◄

   Capa celular formada = reacción positiva
   Botón compacto de eritrocitos sedimentados = reacción negativa

   Para la lectura visual de los resultados se puede recurrir a la “Ayuda de interpretación Solidscreen™ II " (disponible bajo demanda).

Si se desea, se puede efectuar una confirmación de los resultados negativos mediante eritrocitos cargados sensibilizados con IgG en caso de un procesamiento semiautomático:

Ejecución de la prueba test – control de los resultados negativos de la prueba test

1. Coombscell-E está disponible en un suspensión celular de 3% y tiene que ser diluida con una solución de cloruro de sodio isotónica para obtener una suspensión celular de 1% (1 parte de Coombscell-E + 2 partes de solución de cloruro de sodio isotónica).
2. Pipetar 25 µl de la suspensión de 1% de eritrocitos cargados sensibilizados con IgG (Coombscell-E) con una pipeta multicanal en cada cavidad pozo.
3. Resuspensión completa de los eritrocitos sedimentados en el agitador (velocidad media).
4. Centrifugar 3 minutos a 35-40 x g.
5. **Evaluación:** Cada cavidad pozo tiene que presentar una capa celular formada = positiva, entonces la Anti-human Globulin Solidscreen II o la Anti-human Globulin Solidscreen II-Donor es reactiva y los resultados negativos del test fueron confirmados.

CE 0197

BIO-RAD

186672/32 – 02/2015

Si la cavidad muestra sólo un botón de eritrocitos sedimentados, entonces se tiene que repetir el test Solidscreen™ II o Solidscreen™ II-Donor para esta muestra.
Posibilidad de error: Un lavado insuficiente causa la neutralización de Anti-human Globulin Solidscreen II o Anti-human Globulin Solidscreen™ II Donor.

Titulación de anticuerpos
1. Para una serie geométrica de preparar diluciones seriadas se aplican respectivamente 50 µl del medio de titulación Solidscreen™ II en los respectivos pozos cavidades.
2. 50 µl del suero conteniendo anticuerpos se titulan en el medio de titulación aplicado.
3. La continuación de la prueba test se efectúa como se describe en "Ejecución de la prueba test, A. semiautomática".

B. TANGO® optimo y TANGO infinity®:
Se han de observar las indicaciones para la ejecución de la prueba test contenidas en las instrucciones de servicio de los autómatas equipos automatizados de grupos sanguíneos TANGO® optimo y TANGO infinity®.

Sensibilidad
Estudios contra un anti-D estándar han demostrado que con el sistema de prueba test Solidscreen™ II Strip se pueden determinar por lo menos 0,05 I.U./ml Anti-D. (Estándar utilizado: Etalon nacional anti-RH1(D) Product Code 51260, cuya concentración se comprueba regularmente mediante una medición en compa-ración directa con el estándar de la WHO 01/572.)[4]

Conservabilidad
Las MTP pueden ser utilizadas hasta la fecha de caducidad indicada si se guardan a 2...8°C. Después de abrir la envoltura individual (bolsa de aluminio), las MTP se tienen que utilizar dentro de un margen de 24 horas. Las placas Solidscreen™ II Strip no utilizadas completamente pueden seguir siendo usadas por 24 horas más si se almacenan en seco a temperatura ambiente. La fecha de conservabilidad impresa en la etiqueta tiene validez para bolsas de aluminio no abiertas e intactas. Placas abiertas pueden ser almacenadas en el TANGO® optimo y TANGO infinity® hasta 7 días.

Características de rendimiento y límites del método
- El fin de aplicación del estudio de compatibilidad con Anti-human Globulin Solidscreen™ II y Anti-Human Globulin Solidscreen™ II-Donor se limita a la determinación de incompatibilidades en virtud de anticuerpos IgG y no es adecuada para determinar incompatibilidades ABO.
- Dado que el enlace complementario es inhibido por anticoagulantes, el plasma no es adecuado para determinar anticuerpos ligantes de complementos.
- Las muestras que han sido tipificadas previamente con un método de aglutinación directo como RhD negativas, pueden ser testadas analizadas con Solidscreen™ II Anti-D (RH1) Blend con especto a los antígenos weak D débil y Partial D parcial antigenes. Muestras de sangre RhD positivas con característica D normal pueden conducir a resultados erróneamente negativos en el método Solidscreen II debido a aglutinados.
- Un lavado insuficiente puede conducir a reacciones erróneamente negativas. Cantidades residuales pequeñas de suero/plasma pueden neutralizar la anti-globulina humana.
- Debido a la temperatura de encubación de 37°C no se registran en gran parte anticuerpos eritrocitarios con un óptimo de reacción <20°C (anticuerpos reactivos fríos). En general se acepta que los anticuerpos reactivos fríos no tienen un significado clínico subordinado para la medicina transfusional de transfusiones 2).
- Para una mejor detección registro de anticuerpos del sistema Rh en el método Solidscreen™ II se puede analizar las muestras testar adicionalmente con células de test prueba tratadas por enzimas (Biotestcell®-P3 E o Biotestcell®-I11 E).
- Anticuerpos IgM débiles pueden reaccionar negativamente en Solidscreen™ II.
- Anticuerpos muy débiles ocasionalmente no se detectan registran con Solidscreen II. Entonces se pueden aplicar adicionalmente otros métodos de análisis test.
- En función de los eritrocitos de prueba test utilizados no se pueden registrar todos los anticuerpos, p. ej. contra antigenos de "baja frecuencia" en el test Solidscreen™ II. Por eso, una prueba test de búsqueda de anticuerpos negativo no significa siempre que también no haya anticuerpos.
- Posibles causas de un resultado erróneamente positivo son:
  - Contaminación de la muestra o del reactivo utilizado
  - Auto-anticuerpos
  - Almacenamiento inapropiado insuficiente de los eritrocitos preparados para el análisis a testar
  - Anticuerpos contra antibióticos u otros componentes reactivos
  - Anticuerpos fríos
  - Adición de inmunoglobulinas Rh
- Posible causa de un resultado erróneamente negativo:
  - Reacciones negativas pueden presentarse en muestras cuya concentración de anticuerpos es demasiado pequeña para ser registrados con este método de prueba test. Ningún método de prueba test puede detectar registrar todos los anticuerpos de los grupos sanguíneos.

En caso de resultados dudosos de causa confusa, está a disposición el Bio-Rad-Service (Tel. 06103–3130-611) para consultas..

Advertencias y reglas de precaución
Todas las técnicas se aplicarán según las prescripciones del fabricante. Todos los aparatos tienen que someterse regularmente a mantenimiento según las prescripciones del respectivo fabricante. Diferencias de las técnicas de procesamiento indicadas por el fabricante tienen que ser validadas por el usuario y bajo su responsabilidad.
Concentraciones de anticuerpos muy altas pueden conducir a aglutinados pero que se distinguen claramente del botón compacto de eritrocitos sedimentados (= reacción negativa). El Punto 7 de las instrucciones de trabajo tiene la finalidad de impedir que los aglutinados sean interpretados como reacción erróneamente negativa en la formación de la fase sólida.
Las MTP no deben ser congeladas.
Tiras ya empezadas no deberán ser utilizadas otra vez.
Las MTP deben llevarse a temperatura ambiente antes de su uso.
En casos individuales, el aparato lavador puede eliminar por aspiración los aglutinados extremadamente fuertes. En tal caso se tendrá que repetir el test y efectuar manualmente la operación de lavado.
Los controles de calidad internos regulares deberían efectuarse conforme a las directivas nacionales.
Informaciones sobre la eliminación de MTP utilizadas se pueden sacar de la hoja de datos de seguridad.
Todos los materiales de origen humano utilizados para Solidscreen™ II Strip son examinados con respecto a HbsAg, Anti-HCV und Anti-VIH-1/-2 y tienen que probar no ser reactivos.
De ese modo, el riesgo de una infección con agentes patógenos de hepatitis, VIH 1 / 2 u otros agentes patógenos está prácticamente descartado.
No obstante, todos los reactivos de test deberían ser manejados como potencialmente infecciosos y adoptar las respectivas medidas de precaución.
La albúmina de res utilizada en la fabricación de los reactivos se adquiere únicamente de animales libres de EEB.

Bibliografía:

1) K.J. Reis et.al. (1984), Journal of Immunology.
2) Issitt, P.D. and David J. Austee: Applied blood group serology, fourth edition 1998.
3) Uthemann, H. und Poschmann, A.: Solid-phase antiglobulin test for screening and identification of red cell antibodies. Transfusion 1990, 30:114 – 116.
4) INTS (Institut national de la transfusion sanguine, Centre national de référence pour les groups sanguins), 20 rue Bouvier, BP79, 75522 Paris CEDEX 11, Francia.

Clave: subrayado = suplemento o modificación importante ◄= texto quitado

Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH
Industriestr. 1, D-63303 Dreieich, Germany
Tel.: +49-6103-3130-0, Fax: +49-6103-3130-724
www.bio-rad.com, techsupport.bmd@bio-rad.com

CE 0197

186672/32 – 02/2015